ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Année 1964 N° 4

LE DOSAGE DE LA SPIRAMYCINE DANS LES ORGANES DU POULET

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en Février 1964

DEVANT LA

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE TOULOUSE

PAR

CLERCY (Albert-Eugène-Michel)

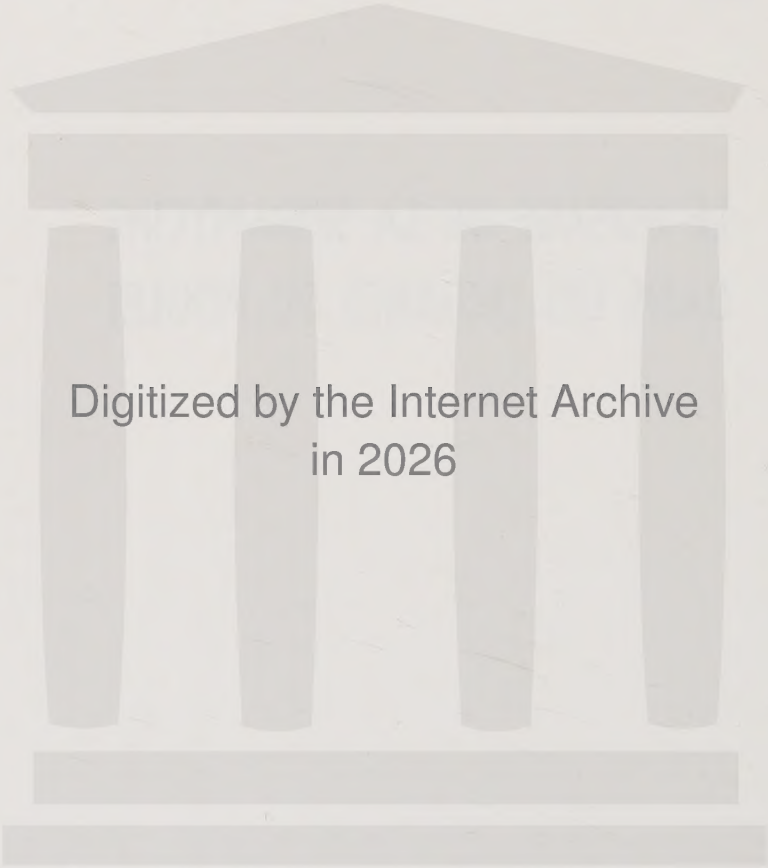
Né le 26 Janvier 1936, à ALGER

JURY
- *Président :* M. ANDRIEU, Professeur à la Faculté de Médecine.
- *Assesseurs :* M. DARRASPEN, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire.
- *Assesseurs :* M. SAURAT, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire.

IMPRIMERIE OUVRIÈRE
6, Rue Bayard, 6
TOULOUSE

1964

LE DOSAGE DE LA SPIRAMYCINE DANS LES ORGANES DU POULET


Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547605_0067

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Année 1964 N° 4

LE DOSAGE DE LA SPIRAMYCINE DANS LES ORGANES DU POULET

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT VÉTÉRINAIRE

(Diplôme d'Etat)

Présentée et soutenue publiquement en Février 1964

DEVANT LA

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE TOULOUSE

PAR

CLERCY (Albert-Eugène-Michel)

Né le 26 Janvier 1936, à ALGER

JURY
- *Président :* M. ANDRIEU, Professeur à la Faculté de Médecine.
- *Assesseurs :* M. DARRASPEN, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire.
- *Assesseurs :* M. SAURAT, Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire.

IMPRIMERIE OUVRIÈRE
6, Rue Bayard, 6
TOULOUSE

1964

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN

MINISTERE DE L'AGRICULTURE

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

Directeur. . . . . MM. : PONS.
Professeur honoraire. . . . . LASSERRE.

PERSONNEL ENSEIGNANT

PROFESSEURS

Chaire de Pharmacie - Toxicologie. . . . . GODFRAIN.
Pharmacie et Toxicologie.

Chaire de Physique et Chimie Biologiques et Médicales. RICO.
Physique et Chimie Biologiques et Médicales.

Chaire d'Anatomie des Animaux domestiques. . . . . PAVAUX.
Anatomie descriptive. — Extérieur.
Anatomie appliquée.

Chaire de Physiologie - Thérapeutique. . . . . PIERRE.
Physiologie. — Thérapeutique et Pharmacodynamie.

Chaire d'Histologie - Anatomie Pathologique. . . . . LOMBARD.
Histologie et Embryologie. — Anatomie Pathologique.

Chaire d'Inspection et Contrôle des Denrées Alimentaires. . . . . LABIE.
Inspection des Viandes. — Inspection du Lait.

Chaire de Parasitologie. . . . . BRIZARD.
Zoologie appliquée. — Parasitologie externe. — Parasitologie interne. — Clinique.

Chaire de Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores. . . . . DARRASPEN.
Pathologie Médicale des Equidés et Carnivores. — Législation Vétérinaire. — Clinique.

Chaire de Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour. . . . . TOURNUT.
Pathologie Médicale du Bétail et des animaux de basse-cour. — Clinique. — Clinique externe.

Chaire de Pathologie Chirurgicale. . . . . N...
Technique chirurgicale. — Pathologie chirurgicale. — Clinique.

Chaire de Pathologie de la Reproduction. . . . . BERTHELON.
Pathologie de la Reproduction. — Obstétrique. — Clinique.

Chaire de Pathologie des Maladies Contagieuses. . . . . SAURAT.
Microbiologie. — Immunologie. — Maladies contagieuses. — Police sanitaire.

Chaire de Zootechnie. . . . . PONS.
Ethnologie. — Hygiène. — Zootechnie. — Economie Rurale.

Chaire d'Alimentation. . . . . FALIU.
Botanique appliquée. — Agronomie. — Alimentation.

CHEFS DE TRAVAUX

Maladies Contagieuses. . . . . MM. : LAUTIE, Agrégé.
Pathologie Médicale. — Législation Vétérinaire. . . . . LESCURE, Agrégé.
Pharmacie. — Toxicologie. . . . . MILHAUD, Agrégé.
Pathologie Chirurgicale. . . . . CAZIEUX.
Pathologie de la Reproduction. . . . . ROYAL.
Physiologie. . . . . FARGEAS.
Pathologie Médicale du Bétail et des Animaux de basse-cour. . . . . ESPINASSE.
Alimentation. . . . . GRIESS.

COURS COMPLEMENTAIRES. — CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Droit Vétérinaire. . . . . LINON.
Botanique. . . . . MORQUER.
Pisciculture. . . . . SECONDAT.
Agronomie. . . . . BRISEBOIS.
Economie Rurale. . . . . N...

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (Délibération de la Faculté, en date du 10 mai 1891 et du Conseil de l'Ecole, en date du 13 juin 1924).

A MES PARENTS

A MA FEMME

A TOUS LES MIENS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR ANDRIEU

DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE TOULOUSE

Qui nous fait le grand honneur d'accepter la présidence de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR SAURAT

DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Qui nous a inspiré le sujet de cette thèse.
Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre vive reconnaissance.

MONSIEUR LE PROFESSEUR DARRASPEN

DE L'ECOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

OFFICIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

Qui nous fait le grand honneur de faire partie de notre jury de thèse.

Hommage respectueux.

INTRODUCTION

Depuis quelques dizaines d'années, on a vu apparaître un nombre croissant de substances soit bactériostatiques, soit bactéricides que l'on a groupées sous le nom d'antibiotiques. Elles ont vu leur utilisation s'étendre de façon variable, suivant leur nature et leur activité, tant en médecine humaine qu'en médecine vétérinaire.

Dans cette dernière branche, la thérapeutique aviaire a pris un essor considérable, conséquence de l'intérêt économique de l'élevage avicole. De nombreuses affections ont été décelées et principalement certaines atteintes de l'appareil respiratoire dues à des Mycoplasmes, tels que *Mycoplasma gallisepticum*, agent de la maladie respiratoire chronique des volailles. Divers antibiotiques ont été essayés contre cet agent. Les travaux de KISER, POPKEN et CLEMENTE aux U. S. A., P. SAURAT et R. LAUTIÉ en France, ainsi que les études cliniques de Ph. COTTEREAU, ont montré la nette supériorité de la Rovamycine dans le traitement de ces affections.

On a voulu ramener la notion d'activité thérapeutique d'un antibiotique à celle de taux sanguin. SPITZY et HITZENBERGER pensent qu'il faut rechercher dans la notion du taux tissulaire une explication de cette activité. On peut supposer

qu'une telle action élective a pour cause une meilleure fixation de l'antibiotique dans le parenchyme pulmonaire. La Spiramycine semble douée d'une affinité tissulaire incontestable, comme l'ont montré les travaux de Bénazet et Dubost.

Des études comparatives, entreprises par Maniar et Eidus sur dix antibiotiques, ont montré qu'il existait de grandes différences, d'une part entre leurs activités relatives et, d'autre part, entre les actions *in vitro* et *in vivo*.

Le problème de la fixation tissulaire des antibiotiques n'a fait l'objet que d'un nombre restreint de travaux, notamment en ce qui concerne les volailles. C'est pour cette raison que celles-ci ont été choisies comme matériel expérimental.

C'est afin d'avoir un aperçu du métabolisme de cet antibiotique, ainsi que les différences d'activité *in vivo* et *in vitro* expliquant une telle action thérapeutique, que ce sujet nous a été inspiré.

Cette étude comprend trois parties :

1) Rappel des propriétés biochimiques de la Rovamycine ;

2) Technique du dosage ;

3) Résultats en fonction du mode d'administration.

I. - LA SPIRAMYCINE

C'est en 1954 que M^me^ PINNERT-SINDICO isola, dans les Laboratoires « Rhône-Poulenc », un champignon provenant d'échantillons de terre de la Somme, qui fut d'abord nommé « Streptomyces 3486 ». Il appartient à la famille des Actinomycètes. En culture sur gélose à l'asparagine, il apparaît sous forme de colonies rondes, hémisphériques, à dépression centrale. Le mycélium végétatif est jaune tandis que sa partie sporifère est grise au moment de la sporulation. Il fut ensuite appelé *Streptomyces ambofaciens* et, dans la systématique, on put le rapprocher de *Streptomyces fimicarius* en tenant compte, toutefois, de différences spécifiques aux deux espèces. Au microscope, les éléments mycéliens se montrent formés de spores disposés en chaînette. Certains, non segmentés, ont une forme vrillée. Les spores sont ovoïdes.

La culture en milieu liquide permit d'en retirer deux substances antibiotiques : la Congocidine et la Spiramycine. Celle-ci put être rapprochée, par sa structure chimique, du groupe de l'Erythromycine-Carbomycine.

EXTRACTION

L'obtention de Spiramycine se fait à partir du filtrat d'une culture contenant du glucose et un autolysat de levure dont on a ramené le pH à 9. Sa solubilité est bonne dans la plupart des solvants organiques, mais, pour la séparer du second antibiotique, on emploie l'acétate d'amyle qui dissout électivement la Spiramycine en laissant la Congocidine en solution. Après passage dans un autre solvant tel que l'éther ou le benzène, on évapore sous vide la solution. On obtient ainsi une poudre jaunâtre formée de micro-cristaux. Sa réaction est basique, ce qui permet d'en obtenir des sels d'acides organiques. C'est la Spiramycine ou 5337 R.P., commercialisée sous la dénomination commune de Rovamycine.

PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

Cette poudre est soluble dans l'eau, le méthanol. Elle est, par contre, insoluble dans le benzène, l'acétate d'éthyle, le chloroforme. Par analyse chromatographique, on a pu la séparer en trois constituants différents, dont deux ont été obtenus à l'état cristallisé. Ils ont tous trois des propriétés voisines tant au point de vue chimique que biologique.

PROPRIETES BIOLOGIQUES

Par des antibiogrammes, on a pu tracer le spectre antibactérien de la Spiramycine. Celle-ci est surtout active sur les germes Gram + (streptocoques, staphylocoques, pneumocoques, entérocoques), les corynebactéries, les mycoplasmes et rickettsies. Son action est moins sûre sur les germes Gram — et les mycobactéries. Cette résistance, que l'on peut rapporter à celles rencontrées pour l'Erythromycine et la Carbomycine, confirme la parenté des trois antibiotiques.

La Spiramycine est peu toxique, ainsi que l'ont montré diverses expériences sur la Souris et le Chien. On peut administrer une dose de 5 g par kg par voie orale sans déterminer de troubles. La dose léthale, chez la Souris, est de 1,5 à 2 g par kg de sulfate de Spiramycine par voie sous-cutanée et 0,15 à 0,25 g par kg en intraveineuse. Si l'on compare ses activités *in vivo* et *in vitro*, il existe des différences remarquables, l'action étant plus forte *in vivo*. En effet, l'on a pu obtenir des souches de streptocoques devenues résistantes à la Spiramycine. Par étude des taux inhibiteurs, ces souches se situant dans le premier degré de résistance obtenue avec le même germe *in vitro*. De plus, l'étude du taux sérique chez le Lapin, ainsi que des observations cliniques chez l'Homme, ont montré qu'on ne peut établir de corrélation entre ces taux et l'activité *in vitro*.

Cela tient, sans doute, au fait que la Spiramycine se fixe électivement sur certains tissus, tandis que d'autres en contiennent de façon transitoire (sang) ou pas du tout (cerveau). On a pu constater aussi le grand pouvoir de concentration de la glande mammaire par dosage de l'antibiotique dans le lait après administration par voie buccale.

Par la technique du décalque de Lederberg, on a pu mettre en évidence une action retardée de la Spiramycine qui proviendrait d'une certaine fixation de cet antibiotique par les bactéries. Cela se produit même si on les met en présence de doses subbactériostatiques. La fixation augmente de façon régulière avec le temps de contact. Ainsi, des doses faibles peuvent s'accumuler, donnant finalement les mêmes résultats que des doses fortes. *In vivo* on a pu constater que ces propriétés de fixation existent toujours.

MODE D'ACTION

L'activité antibiotique peut s'exercer vis-à-vis des microbes par deux moyens, soit par une action microbicide directe, soit par un phénomène d'introduction de la substance dans le cycle métabolique du germe, ce qui a pour effet de couper tout développement ; c'est la bactériostase. Afin de connaître le mécanisme d'action de la Spiramycine, des expériences furent faites à l'aide de l'appareil de Warburg. Celui-ci mesure, de façon précise, l'activité respiratoire d'un groupe cellulaire, par lecture d'une colonne à mercure donnant la valeur de la dépression dans un tube rempli d'oxygène et contenant les cellules. On comprend que s'il y a action bactéricide, l'activité respiratoire se stabilisera à un moment déterminé sans changer. Dans le cas d'action bactériostatique, on obtient une courbe caractéristique en fonction de la dose d'antibiotique ajouté à la culture. Cette action est la même à partir d'un certain seuil pour des doses supérieures dans le cas de la Spiramycine.

On a pu, par comptage de germes, mettre en évidence une certaine action bactéricide de la Spiramycine en augmentant la dose bactériostatique. Cependant, on ne peut la considérer comme totale, comme c'est le cas pour la Pénicilline, par exemple.

En résumé, la Spiramycine agit mieux *in vivo* qu'*in vitro*. Des titrages de sensibilité, effectués sur *Mycoplasma gallisepticum*, ont donné une dose active de 4 microgrammes/ml *in vitro*. Le taux est bien supérieur au taux sanguin relevé dans des traitements efficaces.

ETUDE CLINIQUE

Les études cliniques ont eu lieu surtout en médecine humaine. Toutes confirment en partie les résultats de laboratoire. Les résultats les plus intéressants furent obtenus dans le traitement de la toxoplasmose et surtout dans les broncho-pneumopathies à cocci Gram +. Cela avait déjà été montré expérimentalement sur la Souris par MANIAR et EIDUS qui, comparant différents antibiotiques entre eux, avaient obtenus, avec « la Rovamycine », un taux de survie de 100 pour 100.

La Spiramycine fut aussi utilisée avec succès dans des affections de l'appareil génital, cutanées et des mammites.

A la suite d'études faites par DARBON et CROSNIER, nous savons que l'action sur les germes Gram — et les entérobactéries notamment, est nulle. Cette propriété s'est montrée intéressante en médecine humaine, car elle a permis l'administration, par voie orale, sans modification de la flore intestinale évitant, par ce fait, les troubles digestifs fréquents avec d'autres antibiotiques.

II. - DOSAGES

Nous l'avons vu, la Spiramycine, par sa réaction basique, est capable de donner des sels. Dans le commerce, elle se présente sous deux formes : soit la Spiramycine-base pure, poudre blanche peu soluble dans l'eau mais souluble dans des alcools inférieurs comme le méthanol ; soit sous forme d'adipate de Spiramycine. Cette combinaison avec un acide gras lui confère un solubilité convenable dans l'eau. Comme nous le verrons plus loin, son utilisation en est simplifiée.

PRINCIPE GENERAL

On injecte, à un poulet, une certaine quantité de Spiramycine en solution aqueuse que l'on ramène au kilog de poids vif. Cette quantité est variable ainsi que le temps au bout duquel on sacrifie l'animal. On opère par saignée complète. Le sang, lui-même, est recueilli pour dosage. Aussitôt après la mort, on prélève les différents organes à étudier.

1°) Extraction

Sur chacun de ces organes, on prélève 1 g de tissu qui est broyé soigneusement dans un mortier avec de la poudre de verre. Pendant le broyage, on incorpore un solvant. Le broyat est versé dans un tube et le mortier est rincé

avec une petite quantité de solvant. On agite le tube à la main vigoureusement pendant dix minutes.

2°) Dosage proprement dit

On utilise, pour cela, la méthode des antibiogrammes, obtenus avec une souche sensible : *Sarcina lutea* 9341 ATCC, qui donne, sur gélose, des colonies jaunâtres.

Nous allons étudier dans le détail les différents temps d'un tel dosage.

a) *Recherche de la concentration optima en Sarcine*

Un certain volume de culture de Sarcine en bouillon, vieille de vingt-quatre heures, est ajouté à 10 ml d'eau peptonée. 1 ml de cette solution est mélangé à 9 cm^3 de gélose en surfusion que l'on étale sur boîtes de Pétri à fond rigoureusement plat. Pour avoir une idée de la facilité de lecture des zones d'inhibition en fonction de la densité des colonies, on place, au centre des boîtes, un disque de buvard à la Spiramycine servant aux antibiogrammes courants. Chaque boîte représente une certaine dilution de l'inoculum. On lit le résultat après vingt-quatre heures d'étuve.

La dilution à 1/10.000 donne des résultats insuffisants. Celle à 1/1.000 permet d'avoir une densité de colonies largement suffisante pour une bonne délimitation des zones d'inhibition.

b) *Etalonnage de la souche de « Sarcina lutea »*

Au départ, toutes les mesures furent faites à partir d'une solution de Spiramycine en méthanol. Celle-ci était incorporée à un milieu tampon de Britton-Robinson donnant un pH de 9,2. Il convenait aussi de comparer Spiramycine-base et adipate de Spiramycine.

Technique. — On prépare deux solutions titrant 1 mg/ml :

1) la Spiramycine-base en solution dans le méthanol,

2) l'adipate de Spiramycine en solution dans l'eau distillée.

On prépare ensuite trois séries de onze tubes correspondant à :

Série 1 : Spiramycine-base en excipient méthanol-Britton,

Série 2 : Spiramycine-base en excipient méthanol-Britton et 1 g de broyat de foie de poulet pour 10 ml de solution,

Série 3 : Adipate de Spiramycine en eau distillée.

La série n° 2 doit permettre de vérifier s'il existe ou non adsorption de l'antibiotique par les tissus.

Dans chacune des séries, les tubes reçoivent une lettre figurative de la concentration en Spiramycine de la solution qu'ils contiendront, exprimée en gamma/ml.

Soit. . . .	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
γ/ml. . . .	500	250	125	62	31	15	8	4	2	1	0

Pour réaliser de telles dilutions, on place 4 ml de méthanol tamponné dans chaque tube vide. On ajoute, au tube A, 4 ml de solution-mère à 1 mg/ml de Spiramycine. On mélange soigneusement et l'on prélève 4 ml dans le tube A qui contient 500 mg/ml, que l'on mélange au méthanol du tube B et ainsi de suite. La concentration diminue de moitié dans chaque tube jusqu'au tube J, qui n'en contient plus que 18 ml. Le tube K sert de témoin.

A l'aide de ces différentes solutions, on imprègne des disques de papier buvard Gauthier, qualité 110, de 10 mm de diamètre. Chaque disque est marqué en fonction de la série

et du rang du tube. Le séchage se fait à l'étuve sur plaque de verre.

La Sarcine fraîchement repiquée est diluée à raison de 1/10 ml d'une culture de vingt-quatre heures pour 10 ml d'eau peptonée. Après homogénéisation, 1 ml de cette solution est mélangé à 9 ml de gélose en surfusion au voisinage de 45° que l'on coule sur boîte de Pétri. Les disques de buvard sont ensuite placés sur la gélose solidifiée. Après vingt-quatre heures d'étuve, on obtient les résultats suivants, exprimés en mm de diamètre :

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K
Série 1. .	32	30	27,5	25	23	20	16	13	12	11	0
Série 2. .	32	28	26	24	22	21	17	15	13	10	0
Série 3. .	34	31	28	25	23	18	17	13	12	10	0

Si l'on examine ce tableau, on peut voir que pour les trois séries les valeurs obtenues sont sensiblement les mêmes, aux erreurs de mensuration près.

De plus, la présence d'un tissu n'influence nullement la mise en évidence de la quantité de Spiramycine ainsi que son pouvoir de diffusion dans la gélose.

On peut remarquer que pour de fortes concentrations de Spiramycine (500-250 gamma), les valeurs sont si peu différentes que, si l'on trace la courbe arithmétique des diamètres d'inhibition en fonction de la concentration, celle-ci s'étale et sa pente tend à devenir nulle. La lecture devient, de la sorte, de plus en plus imprécise en allant vers les fortes concentrations. Il y aura intérêt, lorsqu'un organe se montrera trop riche en Spiramycine, à diluer plus fortement le broyat pour que le diamètre soit plus aisé à lire (entre 10 et 20 mm).

c) *Extraction à l'eau distillée*

L'approvisionnement en méthanol étant très difficile en raison d'une réglementation sévère, il a paru intéressant d'essayer d'utiliser la solution aqueuse. Celle-ci, déjà, devant se réaliser pour l'injection intramusculaire de la Spiramycine.

L'adipate de Spiramycine étant seul employé en raison de sa grande solubilité dans l'eau distillée, l'injection de cette solution provoque une réaction locale avec œdème du tissu musculaire. Plusieurs essais, faits avec ce mode d'extraction, suivant le protocole précédent, nous ont permis d'établir la correspondance suivante selon la technique que nous avons utilisée :

Diamètre des zones d'inhibition en mm	Concentration gamma/ml
11	2
13	3
14	3,5
15	4
16	5
17	6
18	8 (7- 9)
19	11 (10-12)
20	13
21	18
22	25
23	30
24	40
25	50
26	65

Diamètre des zones d'inhibition en mm	Concentration gamma/ml
27	80
28	100
29	150
30	200
31	250

Pour les quantités inférieures à 2 gamma/ml, on peut avoir une approximation en considérant s'il existe ou non une culture sous le disque et quels sont les caractères de cette culture. On peut admettre les valeurs suivantes :

— La présence de colonies plus ou moins bien développées sous le disque correspondent à moins de 1 gamma/ml ;

— L'absence de culture ou de très petites colonies à la périphérie correspond à environ 1 gamma/ml.

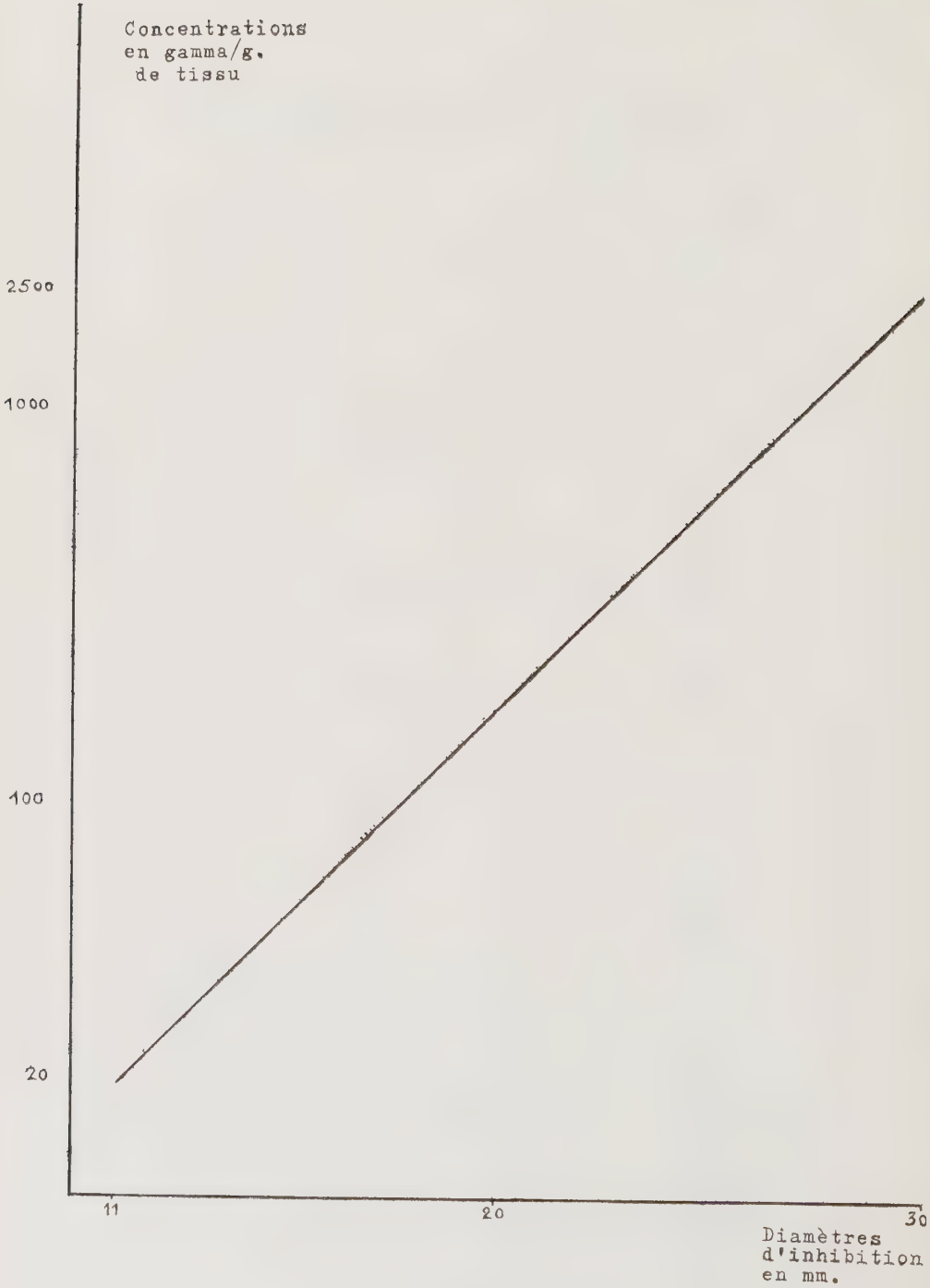
Tout comme pour l'extraction au méthanol, on peut se demander si la présence de tissu n'intervient pas comme facteur d'absorption de la Spiramycine.

Pour vérifier cela, 1 g de foie de poulet est broyé en présence des quantités de Spiramycine précédemment énumérées en solution dans 0,5 ml d'eau distillée. On ajoute à ce broyat 8,5 ml d'eau distillée, ce qui ramène le volume final à 10 ml. Après agitation manuelle vigoureuse de dix minutes, on laisse décanter au réfrigérateur. Pour éviter des erreurs, deux disques sont imprégnés à l'aide du surnageant de chaque broyat. Ils sont ensuite placés sur gélose en boîte de Pétri ensemencée suivant la même méthode.

On a ainsi des taux de 5 - 10 - 20... gamma/g de tissu, tandis qu'en solution la concentration par ml est dix fois moin-

dre, ce qui rapproche des conditions expérimentales. On obtient le tableau suivant :

Concentration en gamma/g de tissu	Concentration en gamma/ml	Diamètre en mm
5	0,5	0
10	1	0 ± sous le disque
20	2	11
30	3	13 +
40	4	15
60	6	16
70	7	17
80	8	18
90	9	18
100	10	18 +
120	12	19
140	14	20
160	16	20
180	18	21
200	20	21
250	25	21 +
300	30	22
400	40	23
500	50	24
600	60	25
700	70	26
800	80	27
900	90	28
1.000	100	28
1.500	150	29
2.000	200	30
2.500	250	31


Concentrations
en gamma/g.
de tissu
2500
1000
100
20
11
20
30
Diamètres
d'inhibition
en mm.

Ces valeurs étant déterminées, il suffit de tracer une courbe qui permet de retrouver les concentrations pour les valeurs intermédiaires de celles d'inhibition. Cette courbe est tracée sur papier à échelle semi-logarithmique en portant en ordonnée les concentrations/ml et en abcisse les diamètres d'inhibition. On pourra ainsi, ultérieurement, se servir de cette échelle pour déterminer les valeurs des cernes expérimentaux en fonction des dilutions.

II. — EXPERIENCES COMPLEMENTAIRES

a) Influence du pH

L'extraction en méthanol se faisait, selon la technique de Bénazet et Dubost, en milieu tamponné de Britton-Robinson à pH 9,2.

Des essais d'extraction sont faits à l'aide d'eau distillée tamponnée avec phosphate disodique et du phosphate acide de potassium aux pH 6 - 7 et 8.

Les résultats sont identiques à ceux du tableau général, à savoir :

Gamma/ml	Inhibition
1	0
2	11-12
4	15
8	18
16	21

Le pH a peu d'influence.

b) Influence de la Chaleur

Un chauffage de deux minutes à 100° diminue légèrement les zones d'inhibition ; il y a donc destruction partielle

de l'antibiotique et ce procédé ne peut convenir pour l'extraction.

c) Influence de la dessiccation des disques

Le dessèchement des disques demandant un temps assez long, on se contente, dans une expérience, de placer les disques, seulement essorés sur plaque de verre, sur gélose. On obtient les chiffres suivants :

Gamma/ml	Diamètre en mm
1	0
2	12
4	15
8	18
16	21

Il n'y a donc aucun intérêt à utiliser les disques desséchés. Le même résultat est obtenu après imprégnation extemporanée.

d) Mesure des très faibles concentrations

Si la technique précédente est suffisante pour les concentrations élevées, il n'en est pas de même pour les très faibles concentrations inférieures à 2 gamma. Pour augmenter la sensibilité, on peut imprégner un disque plusieurs fois avec le surnageant d'un même tube, étant entendu qu'il doit être parfaitement desséché dans chaque intervalle.

Résultats :

Solutions gamma/ml	Nombre d'imprégnations			
	1	2	3	4
1	0 +	0 —	12	13
2	11	12	13	15

e) Influence de la Concentration en tissu sur le titrage

On prépare deux séries de tubes.

Série A. — Contenant de l'eau distillée (9,5 ml) à laquelle on ajoute 0,5 cm^3 de solution de Spiramycine à une concentration variable.

Série B. — Contenant de l'eau distillée (6,5 ml) à laquelle on ajoute 3 g de tissu hépatique préalablement broyé en présence de 0,5 ml de solution de Spiramycine à une concentration variable.

SERIE A. — Sans tissu :

Eau en ml	Spiramycine pour 0,5 ml en gamma	Concentration globale en gamma/ml	Diamètre d'inhibition en mm
9,5	10	1	0
9,5	20	2	11
9,5	40	4	15
9,5	80	8	18

SERIE B. — + 3 g de tissu :

Eau en ml	Spiramycine pour 0,5 ml en gamma	Concentration globale en gamma/ml	Diamètre d'inhibition en mm
6,5	10	1	0
6,5	20	2	11
6,5	40	4	15
6,5	80	8	17 - 18

La série B est identique à la série A, elle-même comparable au titrage de base. Les valeurs obtenues pour 1 g de tissu seront donc valables.

Durée de conservation des solutions en présence de tissu

On conserve les surnageants des expériences précédentes pendant six jours au réfrigérateur. Au bout de ce temps, on teste à nouveau le pouvoir d'inhibition.

Gamma/ml	Diamètre en mm
2	11
4	14 - 15
8	17
16	20 - 21

Il y a donc une bonne conservation pendant un temps largement suffisant pour permettre aux broyats de décanter.

On peut aussi, pour des raisons pratiques, différer les mises en culture à condition de garder les tubes au froid.

III. - TITRAGE

ESSAIS PRELIMINAIRES SUR UN POULET

Afin de préciser la technique, un essai est fait sur un poulet de 1 kg environ. Celui-ci reçoit, en injection intra-musculaire, une dose d'adipate de Spiramycine de 100 mg/kg dissoute dans 5 ml d'eau distillée. L'injection est pratiquée au niveau des pectoraux, en deux points différents.

Le poulet est sacrifié six heures après par saignée complète. On constate, à l'autopsie, une réaction du tissu musculaire avec œdème aux points d'injection. On prélève le foie, les reins, les poumons, le cerveau. Deux fragments de 1 g chacun sont prélevés sur chaque organe, le sang fait aussi l'objet d'un dosage. Ils sont broyés dans le mélange Méthanol-Britton et dans l'eau distillée. Ceci afin de comparer une dernière fois les avantages de deux modes d'extraction.

Pour 1 g de tissu, on utilise 12,5 ml de Méthanol et 4 cm³ d'eau distillée. On obtient les résultats suivants :

	Rein	Poumon	Foie	Sang	Cerveau
Méthanol. .	17	14	17	0 culture sous les disques	0 culture sous les disques
Eau.	18	17	20	11	0 colonies très petites

En première approximation, on voit qu'il existe une nette électivité de la Spiramycine pour le foie, le poumon et le rein, tandis que le sang en contient peu et le cerveau encore moins. Il semble, dans ce dosage, que la supériorité des chiffres donnés par la solution aqueuse soient dûs à une plus faible dilution.

Les mêmes solutions servent à d'autres essais : dépôts en tube de Heatley, cupules découpées à l'emporte-pièce dans gélose. Ces méthodes donnent des chiffres comparables mais sont plus délicates à réaliser, d'un emploi peu pratique.

Des fragments d'organes sont déposés sur la gélose, mais la méthode est ici très imprécise, le suc tissulaire diffusant inégalement.

C'est donc classiquement, par imprégnation de disques de papier buvard, que les dosages systématiques vont être réalisés.

Ils sont répartis en quatre séries.

Dosages après : trois heures, six heures, douze heures, vingt-quatre heures, quarante-huit heures, trois jours, quatre jours, pour :

Injections intra-musculaires → 100 mg/kg
Injections intra-musculaires → 50 mg/kg

Administration *per os* → 500 mg/kg d'aliment
Administration *per os* → 500 mg/kg d'eau de boisson

Les expériences successives nous ont montré que, selon le temps après lequel le poulet est sacrifié, et suivant la nature de l'organe et donc sa teneur en Spiramycine, il y avait

avantage à réaliser des dilutions différentes : la quantité d'eau distillée mise en jeu variant de 2 à 49 ml pour 1 g de tissu.

1)	Foie.	3 à 24 heures. . . .	dilution à $\frac{1}{25}$ ou $\frac{1}{50}$
	Reins.	48 heures.	dilution à $\frac{1}{20}$
	Poumons. . . .		
	Rate.	3 à 4 jours.	dilution à $\frac{1}{3}$ ou $\frac{1}{4}$
2)	Sang.	3 à 24 heures. . . .	dilution à $\frac{1}{5}$
		48 heures à 4 jours	dilution à $\frac{1}{2}$ ou $\frac{1}{3}$
3)	Cerveau.	concentration maxima	$\frac{1}{3}$
	Muscle.	concentration maxima	$\frac{1}{7}$

Les chiffres obtenus sont les moyennes de dosages effectués sur deux à quatre poulets, et expriment des microgrammes par gramme de tissu.

DOSAGE N° 1

ADMINISTRATION DE LA SPIRAMYCINE PAR UNE INJECTION INTRA-MUSCULAIRE A LA DOSE DE 50 MG PAR KG DE POIDS VIF

(Solution aqueuse à 1/100)

	POULETS SACRIFIÉS APRÈS						
	3 h.	6 h.	12 h.	24 h.	48 h.	3 jours	4 jours
Foie.	150	200	150	110	30	10	5
Rate.	—	—	200	—	20	18	6
Reins. . . .	125	150	130	70	25	4	3
Poumons. .	175	150	100	80	15	8	< 3
Sang.	20	15	15	6	4	4	3
Sérum. . . .	10	8	8	2	1	1	1
Cerveau. . .	< 3	< 3	—	< 3	—	—	—

Les nombres figurant dans le tableau expriment : microgrammes de Spiramycine par gramme de tissu.

DOSAGE N° 2

ADMINISTRATION DE LA SPIRAMYCINE PAR UNE INJECTION INTRA-MUSCULAIRE A LA DOSE DE 100 MG PAR KG DE POIDS VIF

(Solution aqueuse à 1/50)

	POULETS SACRIFIÉS APRÈS							
	3 h.	6 h.	12 h.	16 h.	24 h.	48 h.	3 jours	4 jours
Foie.	200	250	300	250	200	100	50	15
Rate.	—	200	—	—	150	70	25	15
Reins. . . .	150	200	200	100	90	70	15	12
Poumons. .	200	250	200	200	150	50	12	10
Sang.	30	20	18	16	15	8	4	4
Sérum. . . .	15	10	8	6	5	4	1	1
Cerveau. . .	5	5	3	—	3	< 3	< 3	—
Muscle. . . .	7	12	7	—	7	< 7	< 7	—

DOSAGE N° 3

ADMINISTRATION DE LA SPIRAMYCINE *per os* DANS L'ALIMENT

Trois poulets de 800 g ingèrent, pendant quatre jours, un aliment contenant 300 mg de Spiramycine par kg. Le dosage est effectué le quatrième jour.

	POULET n° 1	POULET n° 2	POULET n° 3
Foie.	24	35	20
Rate.	10	16	10
Reins. . . .	10	24	10
Poumons. .	8	9	8
Sang.	4	4	4
Sérum. . . .	< 1	< 1	< 1
Cerveau. . .	< 3	< 3	< 3
Muscle. . . .	< 3	< 3	< 3

DOSAGE N° 4

ADMINISTRATION DE SPIRAMYCINE *per os* DANS L'EAU DE BOISSON

Celle-ci contient 500 mg de Spiramycine par litre. Elle est bue par trois poulets de 1 kg. Le dosage est effectué le quatrième jour.

	POULET n° 1	POULET n° 2	POULET n° 3
Foie.	120	90	80
Rate.	70	60	36
Reins. . . .	70	54	30
Poumons. .	60	36	30
Sang.	18	8	6
Sérum. . . .	4	3	3
Cerveau. . .	6	3	3
Muscle. . . .	6	3	3

CONCLUSIONS

— On peut remarquer la nette disproportion entre le taux sanguin qui n'est que transitoirement élevé et le taux des principaux organes. Tout se passe donc comme si « la petite monnaie » circulant dans le sang était stockée par les tissus. Il existe certainement un métabolisme particulier de la Spiramycine qui provoque pareille accumulation, comme c'est le cas dans les bactéries. Ceci expliquerait les différences rencontrées *in vivo* et *in vitro*.

— Parmi les tissus examinés, hormis le cerveau, le muscle et le sang, tous les autres organes renferment, par gramme de tissu, des doses dépassant largement la dose inhibitrice, *in vitro*, de nombreux germes. On peut les classer par ordre de concentration décroissante : foie, reins, poumons, rate. Cela permet de penser que, lors d'atteinte infectieuse de ces organes (hépatite, néphrite, broncho-pneumonie), le taux inhibiteur des germes se montrant peu sensible *in vitro*, sera largement atteint. En ce qui concerne les poumons, les taux élevés qui y ont été décelés expliquent l'action spectaculaire sur les affections respiratoires des volailles. La Spiramycine atteint rapidement, dans les organes, des concentrations élevées. Le maximum se situant entre six heures et douze heures. La per-

sistance de l'antibiotique se manifeste jusqu'au quatrième jour à des doses encore actives.

— Si l'on compare administration par voie parentérale et *per os*, il existe une nette supériorité de la première. L'injection sera préférée dans les cas aigus, lorsqu'il s'agit de traiter rapidement un petit nombre d'individus. La posologie gagnera à être forte d'emblée (100 mg/kg), car la persistance de l'antibiotique dans les organes sera plus longue et permettra, tout compte fait, d'étaler les injections. On pourra en pratiquer une tous les trois ou quatre jours. La voie orale sera utilisée dans les cas de poulaillers infectés par mesure prophylactique et dans les gros élevages.

Vu :
Le Professeur de l'Ecole
Vétérinaire, Rapporteur,
P. SAURAT.

Vu :
Le Directeur de l'Ecole
Vétérinaire,
P. PONS.

Vu :
Le Président de la Thèse,
ANDRIEU.

Vu : *Le Doyen,*
Pour le Doyen, l'Assesseur :
BLANC.

N° 609

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse, le 8 Janvier 1964.

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,
LOYEN.

BIBLIOGRAPHIE

1. — BENAZET et DUBOST. — *Antibiot. Ann.*, 1958, 59, 211.

2. — COTTEREAU. — *Rev. de Méd. Vét.*, 1962, 113, 105.

3. — DARBON (A.) et CROSNIER (R.). — *La Presse Médicale*, 1955, 53, n° 33.

4. — DOST et WEINGARTNER. — *Schweik. Med. Wochen.*, 1952, 82, 1310.

5. — MANIAR et EIDUS. — *An. Inst. Past.*, 1961, 99, 887.

6. — MARTIN et Col. — *Proc. Staph. Meet. Mayo Clin.*, 1955, 30, 540.

7. — PELLERAT et Col. — *C. R. Ac. Sc.*, 1958, 247, 891.

8. — SASSINOT et CHABBERT. — *An. Inst. Past.*, 1960, 98, 267.

9. — SAURAT et LAUTIE. — *C. Méd. Vét.*, 1956, 25, p.

10. — SAURAT et LAUTIE. — *Rev. Méd. Vét.*, 1962, 113, 81.

11. — SPITZY et HITZEN-BERGER. — *Antibiot. Ann.*, 1957, 58, 996.

12. — TAYLOR et Col. — *Antibiot. and Chemioth.*, 1956, 6, 112.

13. — VIDEAU. — *An. Inst. Pasteur*, 1958, 94, 709.

14. — WRIGTH et Col. — *Antibiot. Med.*, 1956, 2, 311.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION. 9

I. — La Spiramycine. 11

Extraction. 12

Propriétés physico-chimiques. 12

Propriétés biologiques. 12

Mode d'action. 14

Etude clinique. 15

II. — Dosages. 17

I. — *Principe général*. 17

1° Extraction. 17

2° Dosage proprement dit. 18

a) Recherche de la concentration optima en Sarcine. 18

b) Etalonnage de la souche de *Sarcina lutea*. 18

c) Extraction à l'eau distillée. 21

II. — *Expériences complémentaires*. 25

a) Influence du pH. 25

b) Influence de la chaleur. 25

c) Influence de la dessiccation des disques 26

d) Mesure des très faibles concentrations... 26

e) Influence de la concentration en tissu sur le titrage. 27

Durée de conservation des solutions en présence de tissus. 28

III. — TITRAGE. 29

Essais préliminaires sur un poulet..... 29

CONCLUSIONS. 37

BIBLIOGRAPHIE. 41